

Effects of continuous compressive force on vascular endothelial growth factor production and angiogenic activity in periodontal ligament cells

著者	宮川 彩
号	33
学位授与番号	477
URL	http://hdl.handle.net/10097/36651

氏 名 (本籍) : 宮 川 彩 (新潟県)

学 位 の 種 類 : 博 士 (歯 学) 学 位 記 番 号 : 歯 博 第 4 7 7 号

学位授与年月日 : 平成20年3月25日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : Effects of continuous compressive force on vascular endothelial growth factor production and angiogenic activity in periodontal ligament cells
(持続的圧縮力が歯根膜細胞における血管内皮細胞増殖因子の産生と血管形成能に及ぼす影響)

論文審査委員 : (主査) 教授 五十嵐 薫
教授 笹野 泰之 教授 菅原 俊二

論 文 内 容 要 旨

【目的】矯正力による歯の移動時の歯周組織には、圧縮力や伸展力など様々な種類のメカニカルストレスが負荷され、歯周組織のリモデリングが起こる。歯の移動時の圧迫側歯根膜では、過度の圧縮力が負荷された部位において、血液循環障害が起こり、細胞が認められない無構造の変性組織（硝子様変性組織）が出現する。この変性組織は、多核巨細胞およびマクロファージにより排除され、隣接する歯槽骨は、歯根膜腔や骨髓腔から出現する破骨細胞により穿下性に吸収される。圧迫側歯周組織のリモデリングには、変性組織周囲に細胞を供給し、組織を再生させるための血管新生が重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、圧縮力を受容した歯根膜細胞の血管新生における役割には不明な点が多い。血管内皮細胞増殖因子（Vascular Endothelial Growth Factor: VEGF）は強力な血管新生因子であり、近年、骨吸収や骨形成にも関与することが知られている。本研究では、歯の移動時の歯周組織における VEGF の局在を調べるとともに、持続的圧縮力が歯根膜線維芽細胞の VEGF 産生および遺伝子発現に与える影響を検討した。

【方法】6 週齢 Wistar 系雄性ラットを用い、上顎左右第一臼歯間に初期荷重 150mN を発生する規格化した持続的圧縮装置を装着し、歯の移動を行った。歯の移動開始 0, 1, 3, 5, 7, 14, 21 日後に麻酔下にて屠殺し、通法に従って厚さ 5 μ m の連続パラフィン切片を作製し、免疫組織化学的観察を行った。また、ヒト歯根膜線維芽細胞に持続的圧縮力を 24 時間作用させ、VEGF の産生と遺伝子発現を ELISA 法および Real-time RT-PCR 法にて測定した。更に、その培養上清を用いて血管内皮細胞を培養し、管腔形成能を測定した。

【結果】(1) 歯の移動 1～7 日目の圧迫側歯根膜に、相対的に強い VEGF の局在が認められた。(2) 7 日目の圧迫側歯槽骨表面や硝子様変性組織周囲に多くの VEGF 陽性の破骨細胞および多核巨細胞が認められた。(3) 歯周組織のリモデリングがほぼ終了する 21 日目では、その局在は均一になった。(4) 歯根膜線維芽細胞の VEGF 産生および遺伝子発現は、 $4.08 \times 10^4 \text{N/cm}^2$ まで荷重依存的に増加した。(5) 歯根膜線維芽細胞の培養

上清を用いた管腔形成は $4.08 \times 10^{-4} \text{N/cm}^2$ まで荷重依存的に増加した。

【考察および結論】 持続的圧縮力は、歯根膜線維芽細胞の VEGF の産生および遺伝子発現を促進し、血管新生能を増強することが明らかとなった。矯正力による歯の移動において、歯根膜細胞が産生する VEGF は、歯周組織のリモデリングに直接的（骨吸収や骨形成）および間接的（血管新生）に関与している可能性がある。

審 査 結 果 要 旨

歯に矯正力を加えると、歯周組織には多様なメカニカルストレスがかかり、組織の改造現象が惹起され、その結果として歯が移動する。その際圧迫側歯根膜では、過度の圧縮力が負荷された部位において局所循環障害により虚血状態が誘発され、しばしば細胞が認められない変性組織（硝子様変性組織）が出現する。この変性した歯根膜には、その後リモデリング現象が生じ、血管の新生とともに変性組織が除去され、歯根膜線維芽細胞、骨芽細胞、セメント芽細胞や、脈管細胞、造血細胞などの新たな機能を持つ細胞集団が誘導されることによって、正常な組織が回復する。本研究は、このリモデリングにおいて、変性組織周囲に細胞を供給し、組織を再生させるために不可欠な役割を果たしていると考えられる血管新生に着目し、持続的圧縮力が歯根膜細胞により産生される血管新生因子、特に血管内皮細胞増殖因子（Vascular Endothelial Growth Factor: VEGF）に及ぼす影響を明らかにしようとするもので、歯の移動のメカニズムを解明する上で重要な研究テーマである。

具体的には、歯の移動時のラット歯周組織における VEGF の局在を免疫組織化学的に調べるとともに、持続的圧縮力がヒト歯根膜線維芽細胞の VEGF 産生および遺伝子発現とその培養上清の血管形成能に与える影響について *in vitro* での検討も行っている。後者により、*in vivo* の実験における低酸素状態や炎症などの局所環境の変化による影響を排除し、圧縮力の直接作用を明らかにすることが可能となっており、目的に即した妥当な研究方法である。

研究結果として以下のことが明らかにされた：①歯の移動初期の圧迫側歯根膜、特に変性組織周辺の破骨細胞や多核巨細胞に強い VEGF の局在が認められた。②歯根膜線維芽細胞の VEGF 産生および遺伝子発現とその培養上清の血管形成能は、いずれも荷重依存的に増加し、 $4.08 \times 10^{-4} \text{N/cm}^2$ で最大に達した。

本研究は、圧迫側歯根膜においても VEGF が発現することを初めて見だし、ある程度の持続的圧縮力が歯根膜線維芽細胞の VEGF 産生と血管新生能を促進することを明確に示した点で高く評価できる。また、VEGF は骨のリモデリングにも関与することから、歯の移動において歯根膜細胞が産生する VEGF が中心的な役割を担っている可能性があると考えしている。このように、本論文は歯の移動のメカニズムの解明を前進させる極めて重要な情報を提供していることから、博士（歯学）の学位授与に値するものと判断する。